

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Analytická chemie



Ivona Blažková

VÝVOJ FLUOROSENZORU NA BÁZI CHEMICKY
MODIFIKOVANÝCH ELEKTROLUMINISCENČNÍCH DIOD

Developement of fluorosensor based on chemically modified
electroluminescence diods

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Ivan Jelínek, CSc.

Praha 2012

Tato diplomová práce byla vypracována na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 24. srpna 2012.

Tímto bych chtěla srdečně poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Ivanu Jelínkovi, CSc. a konzultantům doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. a doc. RNDr. Juraji Dianovi, CSc. za výborné vedení, odbornou pomoc i vytvoření vhodných pracovních podmínek. Též bych zde chtěla velice poděkovat rodičům i všem přátelům za jejich podporu během studia.

Klíčová slova

Fluorescence, optické senzory, elektroluminiscenční diody

Key words

Fluorescence, optical sensors, electroluminescence diodes

Abstrakt

Luminiscenční senzory na bázi LED byly připraveny modifikací polykarbonátového povrchu LED a následným navázáním luminiscenčních barviv na tento povrch. Byly provedeny dva způsoby modifikace. Prvním způsobem byla oxidace povrchu za vzniku volných karboxylových skupin. Na takto modifikované LED bylo následně navázáno kationogenní barvivo kresylviolet. Druhým způsobem modifikace byla nitrace a následná redukce povrchu za vzniku volných aminoskupin a dále navázání anionogenního barviva sulforhodamin. Byla zkoumána stabilita záření používaných LED a stabilita navázání barviva. Dále byla proměřena odezva připravených senzorů na analyt toluen v plynné a kapalně fázi.

Abstract

Luminescence sensors based on LED were prepared by modification of LED polycarbonate surface and following binding of luminescence dyes on this surface. Two methods of modification were utilized. The first one was the oxidation of the surface yielding free carboxylic groups. Such modified LEDs were then covered by cationic cresyl violet dye. The second modification consisted of nitration and consequent reduction to free amino groups followed by binding of anionic sulforhodamine dye. The stability of emission and the stability of dye binding were studied. Then, the response of constructed sensors to toluene as analyte in gas and liquid phase was measured.

Obsah

Obsah	6
1. Cíle práce	8
2. Chemické senzory	8
2.1. Definice, popis a rozdělení chemických senzorů	8
2.2. Pracovní parametry chemických senzorů	9
2.2.1. Citlivost	9
2.2.2. Selektivita	9
2.2.3. Mez detekce, mez stanovitelnosti	9
2.2.4. Dynamický rozsah a lineární dynamický rozsah	10
2.2.5. Spolehlivost	10
2.2.6. Šum	10
2.2.7. Dynamické charakteristiky	10
2.3. Elektrochemické senzory	11
2.4. Optické senzory	11
2.4.1. Luminiscenční optické senzory	12
2.4.2. Optické senzory založené na povrchové plazmonové rezonanci	13
2.4.3. Optické senzory založené na absorbanci	13
2.5. Další typy chemických senzorů	14
2.5.1. Akustické senzory	14
2.5.2. Termosenzory	14
3. Diody LED	14
4. Polykarbonát	15
5. Experimentální část	17
5.1. Použité chemikálie	17
5.2. Použité LED	17
5.3. Použitá instrumentace	18
6. Výsledky a diskuse	20

6.1. Stabilita záření použitých LED	20
6.2. Chemická modifikace polykarbonátového povrchu LED	21
6.2.1. Oxidace	21
6.2.2. Nitrace a redukce	25
6.3. Příprava vzorků toluenu pro testování odezvy navrženého fluorosenzoru.....	27
6.4. Příprava LED modifikovaných fluorescenčními barvivy	28
6.5. Stabilita LED s navázanými fluorecenčními barvivy	30
6.6. Měření senzorické odezvy pro analyt v plynné fázi	31
6.7. Měření senzorické odezvy pro analyt v kapalné fázi.....	34
7. Závěr	35
8. Poděkování.....	36
9. Seznam použité literatury	37

1. Cíle práce

Cílem práce bylo navrhnout a prakticky vyzkoušet postupy derivatizace povrchu polykarbonátu s cílem navázat kladně a záporně nabitě funkční skupiny. Bude systematicky prostudována možnost chemické oxidace polykarbonátu: za vzniku volných karboxylových skupin a dále nitrace polykarbonátu s následnou redukcí na aminoderivát.

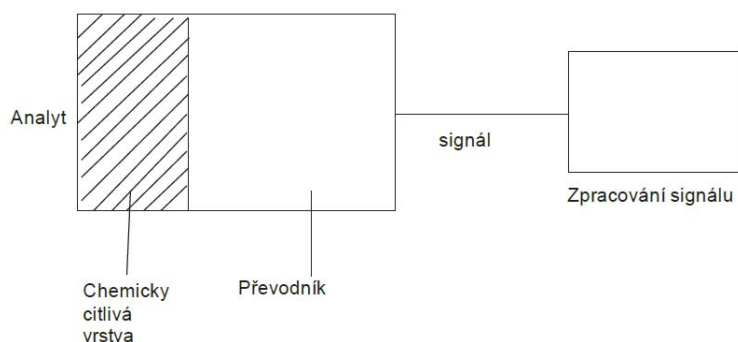
Dále bylo cílem práce prostudovat možnost navázání vybraných fluorescenčních barviv na funkcionalizovaný povrch polykarbonátu s pomocí elektrostatických interakcí.

Dále popsanými metodami upravit povrch standardních elektroluminiscenčních diod a tyto využít pro konstrukci jednoduchého fluorosenzoru analytů v plynné a kapalně fázi.

2. Chemické senzory

2.1. Definice, popis a rozdělení chemických senzorů

Definice chemického senzoru, uvedená v Review Chemical Sensor v roce 1988, jejímiž autory jsou Jiří Janata a Bezeght, zní, že chemický sensor je převodník poskytující přímé informace o chemickém složení ve svém okolí. Skládá se z fyzického převodníku a chemicky citlivé vrstvy. [1] Chemicky citlivá vrstva senzoru může být uměle vytvořena při konstrukci senzoru, ale může se jednat i například o elektrickou dvojvrstvu, tvořenou automaticky na povrchu kovových elektrod. Tato aktivní vrstva reaguje na přítomnost analytu chemickou, nebo fyzikální změnou, která je poté převedena na změnu fyzikální veličiny. Základní uspořádání chemického senzoru je znázorněno na obrázku 1.



Obr. 1 základní uspořádání chemického senzoru [2]

Existuje více možností klasifikace senzorů. Jednou z nich je rozdělení podle nosiče informací na elektrické, optické a neelektrické (např. teplotní). Elektrické senzory dominují a dále je lze dělit na elektronické, polovodičové a mikroelektronické. Jiný způsob dělení může být například na dotykové a bezdotykové, nebo podle způsobu transformace signálu na aktivní a pasivní [3]

V oblasti senzorů se často setkáme také s pojmem biosenzor. Jedná se o chemický senzor, který k rozpoznávání analytu využívá biochemických látek. Může se jednat například o enzym, přičemž analyt je jeho substrátem. Dále může rozpoznávací prvek a analyt tvořit dvojice antigen – protilátka, receptor a jeho specifický ligand, případně může být rozpoznávací složka tvořena živými buňkami. [4]. Prvním biosenzorem byl amperometrický biosenzor pro měření koncentraci glukosy, který vyvinul Clarke v roce 1962. [5]

2.2. Pracovní parametry chemických senzorů

2.2.1. Citlivost

Citlivost je definována jako poměr změny signálu detektoru ku změně koncentrace, nebo hmotnosti analytu. To je vyjádřeno vztahem

$$S = \frac{\Delta R}{\Delta m}$$

2.2.2. Selektivita

Selektivitou se rozumí schopnost senzoru detekovat analyt vedle dalších látek přítomných ve vzorku. Selektivní měření je tedy vhodné, stanovujeme-li například jednu látku ve směsi. Pokud látku předem od ostatních oddělíme, lze použít univerzální detektor.

2.2.3. Mez detekce, mez stanovitelnosti

Mez detekce je definována jako koncentrace nebo hmotnost sledované látky, kterou lze kvalitativně postřehnout. Mez stanovitelnosti je definována jako nejnižší množství sledované látky, kterou lze kvantitativně stanovit. Mez detekce lze počítat jako násobek směrodatné odchylky šumu

$$C_{lim, det.} = \frac{kS}{S}$$

Kde s je směrodatná odchylka šumu a S je citlivost. Hodnota k je přibližně mezi 2 až 4 v závislosti na hladině významnosti ($\alpha = 0,01$ až $\alpha = 0,1$).

2.2.4. Dynamický rozsah a lineární dynamický rozsah

Pojmem dynamický rozsah se rozumí rozsah koncentrací, ve kterém se změna koncentrace projeví změnou odezvy. Lineární dynamický rozsah je pak oblast dynamického rozsahu, ve které je závislost odezvy na koncentraci lineární.

2.2.5. Spolehlivost

Spolehlivost měření se získává běžnými statistickými metodami a vyjadřuje se údaji o přesnosti a správnosti. Přesné měření je takové, kdy se od sebe výsledky významně neodlišují, ale mohou se od skutečné hodnoty lišit soustavnou chybou. Správné výsledky se v průměru shodují se skutečnou hodnotou, ale nejsou-li zároveň přesné, mohou být zatíženy náhodnou chybou. Za spolehlivé výsledky jsou označovány ty, které jsou zároveň správné i přesné.

2.2.6. Šum

Celková odezva detektoru se skládá z odezvy způsobené přítomností analytu a šumu. Šum může být způsoben například nečistotami způsobenými v nosné kapalině vzorku. V ideálním případě by měl být poměr signálu analytu k šumu co nejvyšší.

2.2.7. Dynamické charakteristiky

Jedná se o charakteristiky detektoru, které vyjadřují schopnost měření sledovat změny koncentrace analytu. V případě ideálního detektoru by byla funkce času věrným odrazem časové změny koncentrace analytu ve vzorku. V reálu tomu tak není, což je především důsledkem omezené rychlosti odezvy čidla a zkreslením koncentračního profilu analytu během dopravy vzorku od místa dávkování k čidlu. Dynamické vlastnosti detektoru závisí na celé řadě faktorů (princip měření, konstrukce analyzátoru, experimentální podmínky) a musí být určovány experimentálně. [6][7]

2.3. Elektrochemické senzory

Elektrochemické senzory jsou děleny do dvou základních kategorií: amperometrické a potenciometrické. V případě potenciometrických senzorů vzniká na membráně elektrody potenciál, jehož velikost závisí na množství analytu a tento potenciál je měřen v porovnání s referenční elektrodou. [8]

Jedním z nejstarších a nejpoužívanějších zástupců potenciometrických senzorů je skleněná elektroda. Tu poprvé použil Max Cremer v roce 1906 a později se stala hojně využívaným nástrojem pro měření pH, využívaným v medicíně, biologii, průmyslových laboratořích a dalších oblastech. [9] Jinými typy potenciometrických senzorů jsou senzory s krystalickou membránou (např. fluoridová elektroda)[10] nebo tzv. senzory s kapalnou membránou, jejichž aktivní vrstva je tvořena kapalinou uchycenou na polymerní membráně. [11]

U amperometrických senzorů je vkládáno napětí mezi pracovní a referenční elektrodu. Díky tomu probíhají na elektrodách redoxní reakce, které mají z následek průtok proudu obvodem. Velikost tohoto proudu závisí na koncentraci analytu. [8]. Jedním z nejznámějších zástupců amperometrických senzorů je Clarkova kyslíková elektroda [12]

Výhodami elektrochemických senzorů jsou vysoká citlivost, rychlá odezva a nízká cena. [13]

2.4. Optické senzory

Optické senzory využívají k měření optických jevů jako absorbance, luminiscence, reflektance, nebo plazmonová rezonance. Na chemicky citlivou vrstvu senzoru, reagující na analyt změnou optických vlastností, je přivedeno světelné záření (mohou být využívána UV, VIS, IR, NIR spektra) Po interakci s chemicky citlivou vrstvou je toto záření přivedeno na detektor. K transportu záření bývá využíváno optických vláken. [14]

Výhodami optických senzorů jsou především nízká cena, snadná miniaturizace a nepotřeba referenční cely. K zásadním nevýhodám patří interference okolního světla a nízké analytické rozpětí. [15]

2.4.1. Luminiscenční optické senzory

2.4.1.1. Princip luminiscenčních senzorů

Luminiscenční senzor funguje na principu zhášení nebo naopak zvyšování luminiscence v přítomnosti analytu. [16] Luminiscence se nazývá jev, kdy látka po absorpci záření (UV, nebo VIS) emituje část přijaté energie jak tzv. luminiscenční záření. Energii potřebnou k emisi luminiscenčního záření může látka získat buď přijetím světelného záření (fotoluminiscence), chemickou reakcí (chemiluminiscence) nebo biologickými pochody (bioluminiscence). V analytické chemii má však nejvyšší význam fotoluminiscence. Podle délky dosvitu rozlišujeme dva typy luminiscence: fluorescenci, jejíž délka dosvitu je kratší, v rozmezí 10^{-8} až 10^{-5} s, a fosforescenci s dosvitem delším než 10^{-2} s. [17]

Jako aktivní vrstva senzoru tedy slouží luminiscenční barvivo. To je aplikováno na vhodný pevný materiál například rozetřením rozpuštěného barviva na povrch, fyzickou adsorpcí, nebo může být vázáno chemicky. [18]. Jako vhodný podklad pro uchycení barviva se nejčastěji používá porézních gelů, tzv. sol-gel. [19] Příkladem vhodného a často užívaného barviva je rhodamin a jeho deriváty, vzhledem k jejich vysoké fotostabilitě a intenzivní fluorescenci. [20]

Metody měření využívající fluorescenci mají oproti jiným optickým metodám výhody ve vyšší citlivosti, vyšším dynamickém rozsahu a nižším detekčním limitu. Pozadí signálu je u fluorescenčních metod zanedbatelné v důsledku Stokesova posunu. [21]. Nedostatky jsou nízká stabilita a reprodukovatelnost. [22]

2.4.1.2. Časté oblasti využití luminiscenčních senzorů a jejich konkrétní příklady

Pro konstrukci měření pH pomocí optických senzorů je používáno pH indikátorů, imobilizovaných na povrchu prostupném pro protony. Příkladem využívaných luminiscenčních pH indikátorů vhodných pro tyto senzory je 8-hydroxy-1,3,6-pyren trisulfonylová kyselina (HPTS) [23], či derivát azlaktonu [24]

pH indikátorů se využívá také při konstrukci senzorů pro měření oxidu uhličitého. V tomto případě je před aktivní vrstvou umístěna membrána prostupná pro oxid uhličitý. [25]

Fluorescenční senzory pro měření kyslíku jsou založené na polycyklických uhlovodících. První takový senzor byl na bázi fluoranthenu imobilizovaném na porézním skleněném povrchu. Další příklady jsou optické senzory založené na derivátech pyrenu s karboxylovou skupinou. [26], [27]

Příkladem využití luminiscenčních senzorů v oblasti klinické analýzy jsou různé varianty senzorů pro detekci glukosy. Jednou z nich jsou senzory, jejichž specifita je zajištěna pomocí konkanvalinu A. Jedná se o rostlinný lektin, který glukosu váže. [28]

Další z oblastí využití luminiscenčních senzorů je detekce stopových množství toxických kovů. Např. senzor založený na rhodamin-platnatém komplexu určený k měření rtuťnatých iontů v živých buňkách, [29] senzory na bázi 1,8-naftthyridinu pro detekci kademnatých iontů [30], nebo senzor pro detekci olovnatých iontů, kde jako fluorescenční indikátor slouží tetra-(3-bromo-4-hydroxyfenyl)porfyrin [31]

2.4.2. Optické senzory založené na povrchové plazmonové rezonanci

Povrchová plazmonová rezonance je jev, kdy dopad záření na rozhraní mezi kovem a dielektrikem za určitých podmínek vyvolá tzv. evanescentní vlnu, šířící se tímto rozhranním a interagující s povrchovými elektrony kovu (plazmony). Na základě toho dojde ke změnám v odraženém paprsku záření. Konkrétním příkladem využití v praxi je plazmonový rezonanční senzor pro detekci olovnatých iontů. [32] [33]

2.4.3. Optické senzory založené na absorbanci

Absorbance je jev, kdy při průchodu elektromagnetického záření vzorkem je část tohoto záření pohlcena a intenzita procházejícího záření je snížena. [34]. Příkladem absorbančních optických senzorů jsou senzory pro detekci oxidu uhličitého, založené na absorbujících pH indikátorových barvivech. Fungují tedy podobně, jako je tomu u luminiscenčních senzorů pro detekci oxidu uhličitého. [35]

2.5. Další typy chemických senzorů

2.5.1. Akustické senzory

Akustické senzory jsou užívány pro analýzu a detekci plynů. Zaznamenávají změny akustických vln na aktivní ploše. Nejznámějším zástupcem akustických senzorů jsou křemenné mikrováhy. (QCM, z anglického quartz crystal microbalance). Jejich hlavní součástí je tenká křemenná destička a elektrody. Elektrické pole způsobuje deformaci a rezonanci krystalu (tzv. piezoelektrický jev). Frekvence rezonance je pak ovlivňována hmotností plynu, který se shromažďuje na povrchu krystalu. [36], [37]

Tyto typy senzorů vykazují vysokou spolehlivost, jsou odolné vůči vysokým teplotám či agresivnímu prostředí a mají krátkou dobu odezvy. Jejich hlavní nevýhodou je nízká selektivita. [38]

2.5.2. Termosenzory

Jedná se o senzory, které pracují na principu měření změn teploty. Řadíme mezi ně, tzv. termistory a pelistory. V případě termistorů měříme změnu odporu v závislosti na změnách teploty. Rozlišujeme dva typy termistorů: tzv. NTC termistory, jejichž odpor s rostoucí teplotou klesá a PTC termistory (pozistory), jejichž odpor s teplotou roste. Vyrábějí se slisováním směsí oxidů, například směsí oxidu železitého, titaničitého, manganatého a kobaltnatého.

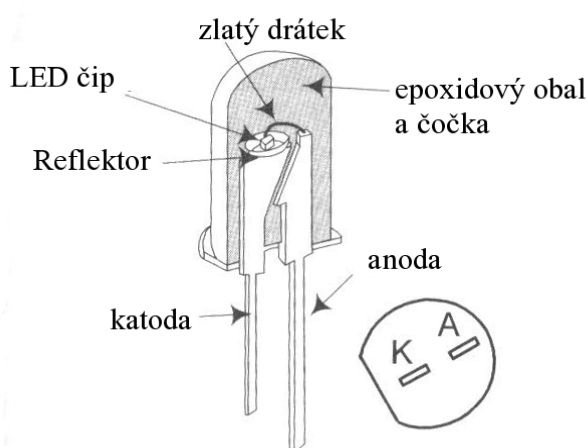
Pelistory měří reakční teplo uvolněné při katalytickém spalování stanovovaných látek v plynné směsi. Hlavní součásti pelistorů jsou topný platinový drátek a katalyzátor. Platinový drátek se zahřívá na teploty do 500 °C, při této teplotě dojde k reakci. Drátek se dále zahřívá v závislosti na koncentraci analytu a slouží tak jako odporový senzor teploty. [39]

3. Diody LED

Název LED je zkratka pojmu Light Emitting diode, tedy světlo emitující dioda. Obsahuje přechod P-N (přechod polovodičů, který propouští proud pouze jedním směrem). LED fungují na základě elektroluminiscence. Přiložíme-li napětí v propustném směru, přechodem prochází elektrický proud. Dojde k rekombinaci elektronů s děrami a elektrony přejdou na vyšší energetickou hladinu. Při přechodu zpět na nižší energetickou hladinu vyzáří

elektromagnetické kvantum a dioda tak vyzařuje světelné záření. Toto záření může být v infračervené, viditelné i ultrafialové oblasti, v závislosti na použitém materiálu. Má-li dioda generovat bílé optické záření, používá se kombinace LED a luminoforu, například modrá LED a žlutý luminofor. Pouzdro diod je obvykle konstruováno z průhledného plastu. [40] Schéma uspořádání LED je znázorněno na obrázku 2

V oblasti chemických senzorů mají tedy LED široké praktické využití jako zdroje světelného záření. Jsou užitečné pro možnost výběru LED v širokém spektru vlnových délek emitovaného záření. Mají také nízkou energetickou spotřebu, dlouhou životnost a jimi emitované záření je stabilní. Výhodou je též nízká cena a variabilita velikostí či tvarů. [41]



Obr. 2 Příklad standardního uspořádání LED [40]

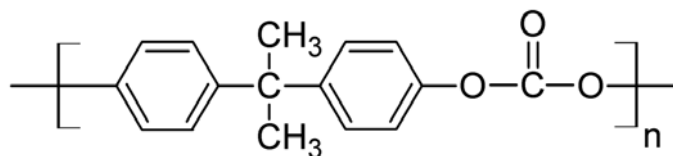
Byly využity například jako součást optického senzoru pro detekci metanu, kde byla použita LED s vlnovou délkou záření v blízké infračervené oblasti [42] nebo fluorescenční senzor pro měření SO_2 na bázi indikátoru rhodamin B-thiokianátu, kde byla zdrojem záření modrá LED. [43]

4. Polykarbonát

Polykarbonát byl poprvé připravený Einhornem v roce 1898. Jedná se o transparentní, amorfni termoplast. Nejběžnějším typem polykarbonátu je bisfenol – A – polykarbonát připravovaný kondenzační polymerací bisfenolu A a fosgenu. Jeho struktura je znázorněna na obrázku 3.

Polykarbonát je často komerčně využíván pro svou vysokou mechanickou odolnost, tepelnou odolnost a průhlednost. Používá se například k výrobě vysoce odolných čoček,

kompaktních disků či optických vláken. [44] [45] Má však také nízkou tvrdost, povrch se snadno poškrábe a dochází k jeho degradaci UV zářením.



Obr. 3 Struktura bisfenol-A-polykarbonátu

Modifikací povrchu karbonátu můžeme vylepšit jeho vlastnosti a rozšířit oblast využití. V praxi používané způsoby modifikace polykarbonátu mohou být mechanické či chemické. Modifikace může probíhat pomocí vystavování povrchu různým druhům záření, či chemickým látkám jako jsou oxidační činidla, silné kyseliny nebo zásady. Obecně lze techniky modifikace rozdělit do tří kategorií:

- 1) Čištění odstraňováním materiálu z povrchu
- 2) Chemické reakce poskytující vznik nových funkčních skupin na povrchu materiálu
- 3) Nános tenkého filmu na povrch

Konkrétními příklady modifikací jsou modifikace plazmou, (tedy navázáním funkčních skupin na povrch polymeru v plazmovém výboji) [46] [47] [48] UV zářením [49] [50] chemická modifikace ionty těžkých kovů [51], či chemické derivatizace povrchu nitrací, redukcí a chlormethylací. [52]

5. Experimentální část

5.1. Použité chemikálie

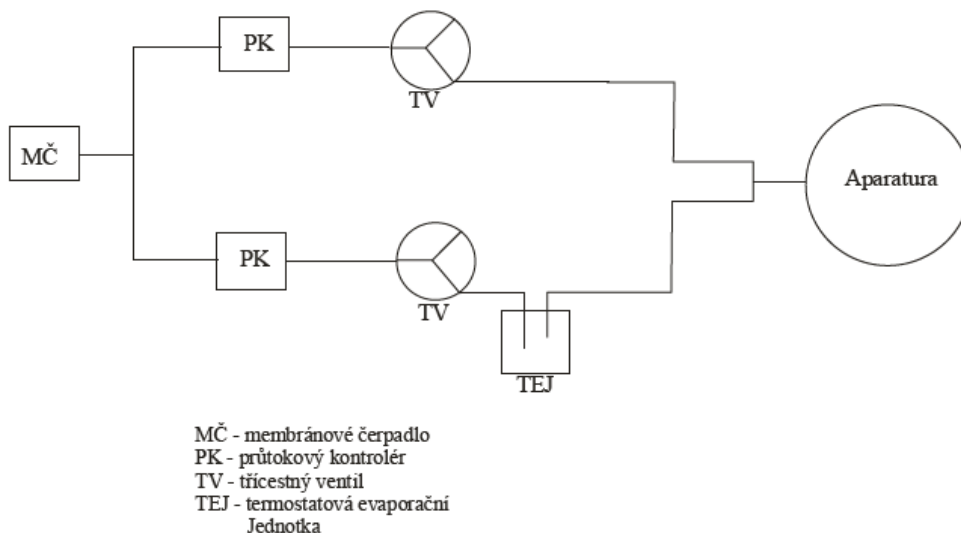
Kyselina sírová 96%	čistá	Lach – Ner s.r.o.
Peroxid vodíku 30%	p.a.	Lach - Ner. s.r.o
Manganistan draselný	p.a.	Penta
Amoniak 25%	p.a.	Penta
Kyselina dusičná 65%	čistá	Lach – Ner, s.r.o.
Kyselin chlorovodíková 35%	p.a.	Lach - Ner s.r.o
Cín	p.a.	Lachema
Sulfid sodný	p.a.	Penta
Ethanol 96%	p.a.	Penta
Methanol	p.a.	Merck
TMPyP		
[$\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -Tetrakis (1-methylpyridinium-4-yl)] Porphyrin p-Toluenesulfonate]		TCI America
Kresilviolet		Lambda Physic
Sulforhodamin 101		Lambda Physic
KCl	p.a.	Lachema
Toluen	p.a.	Penta

5.2. Použité LED

Zelená CM 15 ($\lambda_{\max} = 530 \text{ nm}$)	GM – Electronic, Česká republika
Modrá blue dark 2000/30° ($\lambda_{\max} = 450 \text{ nm}$)	GM – Electronic, Česká republika

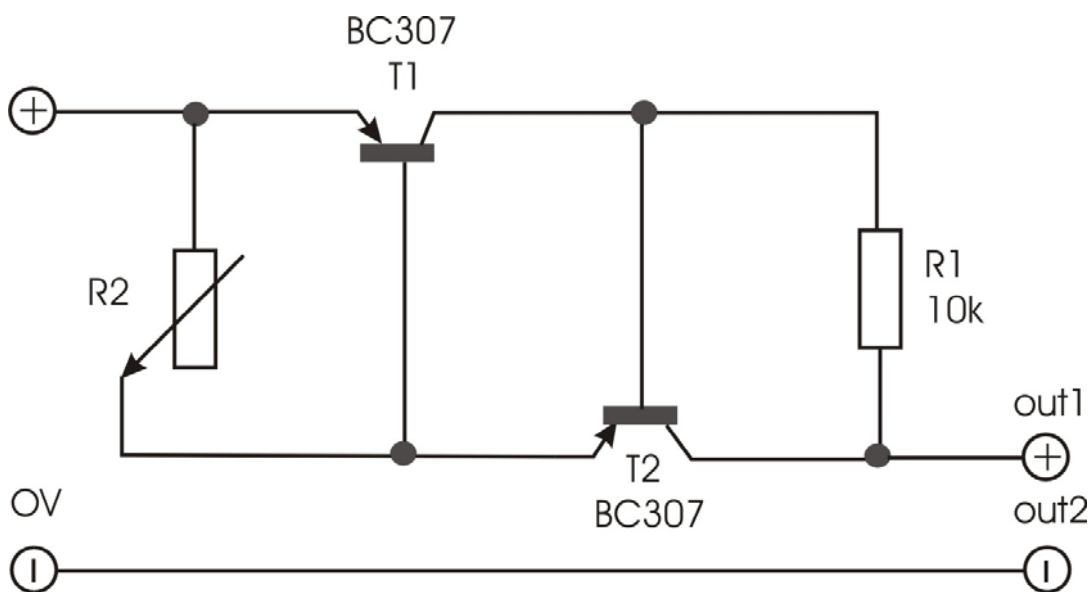
5.3. Použitá instrumentace

Pro přípravu plyných směsí analytů byla použita v laboratoři zkonstruovaná jednotka využívající dva průtokové kontroléry Hastings (Teledyne, U.K.) a dva solenoidové třicestné ventily Valco (Itálie). Schema aparatury je uvedeno na Obr. 4.



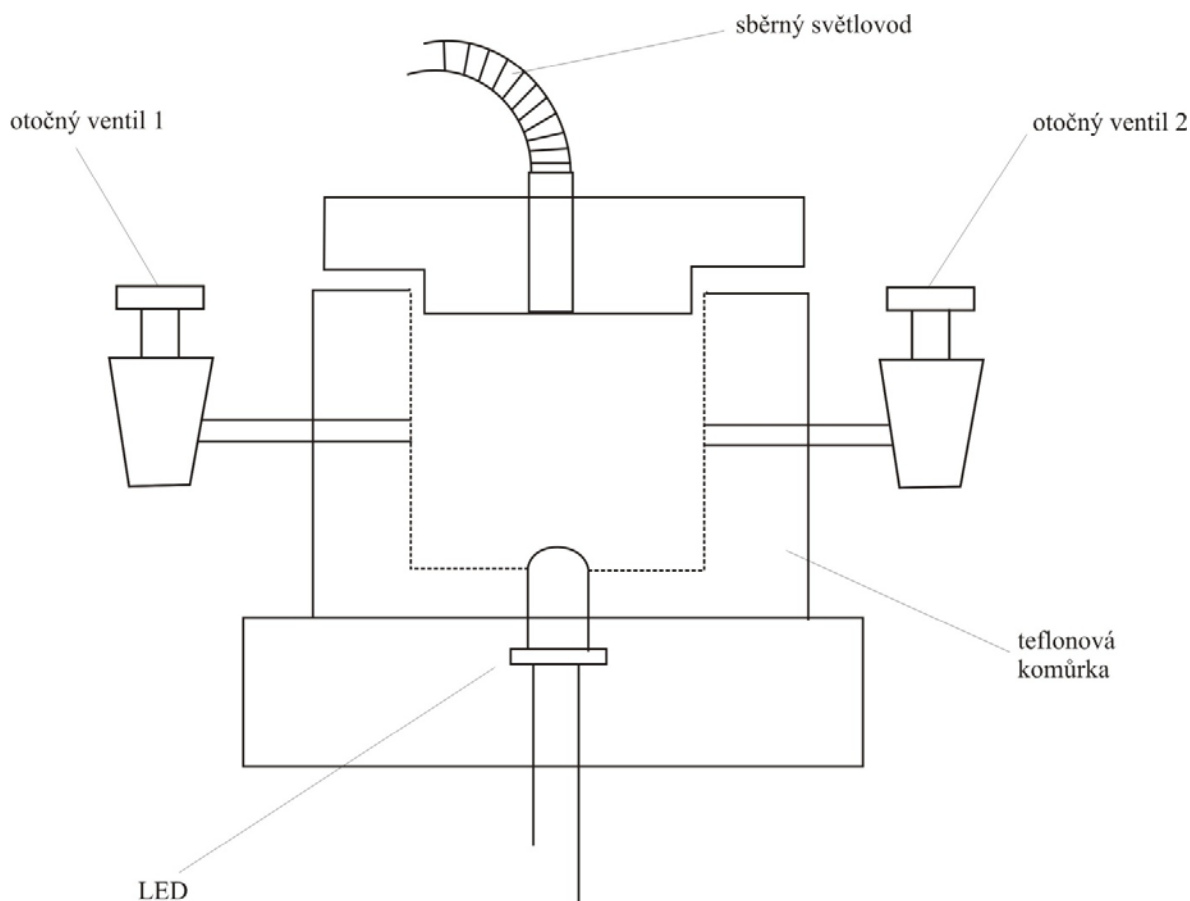
Obr. 4. aparatura pro mísení plyných směsí analýsy

Používané LED byly napájeny z laboratorního zdroje Goldstar (Korea) přes zdroj konstantního proudu, který byl sestavený z běžných elektronických součástek (GM Electronic, Česká republika) podle schématu na Obr. 5.



Obr. 5 Schéma zapojení zdroje konstantního proudu pro napájení LED

Měření senzorické odezvy modifikovaných LED na plynné a kapalně analyty bylo prováděno v laboratoři sestavené teflonové detekční cele (Obr. 6), měřený signál byl zaznamenán a zpracován s pomocí vláknového spektrofotometru AvaSpec-USB1 (Avantes, USA).



Obr. 6 schema detekční cely s modifikovanými LED

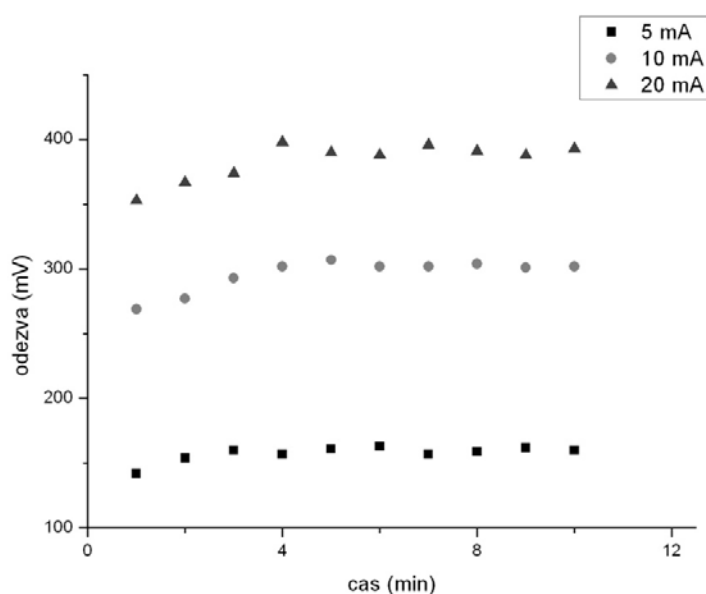
Příprava modifikovaných LED byla prováděna v termostatované olejové lázni s použitím vyhřívaného termostatu IKA RCT Basic (IKA, USA). Pro měření absorpčních spekter byl použit Absorpční spektrofotometr Evolution 60 (Thermo Scientific, USA) s držákem kyvet upraveným pro měření pevných vzorků.

Pro zpracování a grafické zobrazení experimentálních dat byl použit program Origin 8.0 (OriginLab, USA).

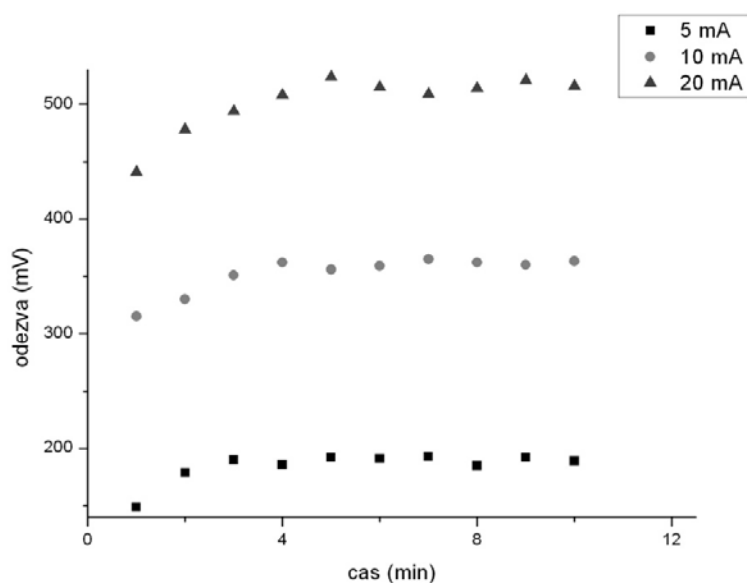
6. Výsledky a diskuse

6.1. Stabilita záření použitých LED

Pro měření bylo potřeba zjistit, je-li záření LED dostatečně stabilní. Za tímto účelem byla měřena odezva fotonásobiče na záření modré a zelené LED při napájecích proudech 5, 10 a 20 mA po dobu 10 minut. Hodnota odezvy byla odečtena vždy po jedné minutě. Závislosti odezvy detektoru na čase jsou znázorněny na obrázku 7 a 8.



Obr. 7 Závislost odezvy fotonásobiče na čase záření pro modrou LED a pro napájecí proudy 5, 10 a 20 mA.



Obr. 8 Závislost odezvy fotonásobiče na čase záření pro zelenou LED a pro napájecí proudy 5, 10 a 20 mA

Ze závislostí je patrné, že zpočátku intenzita záření mírně stoupá, a to zhruba do páté minuty, dále se však odezva detektoru výrazněji neměnila a nedocházelo k jejímu pravidelnému klesání či stoupání. Pro hodnoty odezvy od páté minuty až do konce měření byly spočítány relativní směrodatné odchylky. Hodnoty relativních směrodatných odchylek jsou zaznamenány v tabulce 1.

	5 mA	10 mA	20 mA
Modrá LED	1,48%	0,78%	0,81%
Zelená LED	1,65%	0,98%	1,15%

Tab. 1 Směrodatné odchylky hodnot odezvy detektoru na záření LED od 5. minuty měření

Z uvedených závislostí a hodnot směrodatných odchylek vyplývá, že po pěti minutách dosáhne záření LED dostatečné stability. Je tedy vhodné použít LED jako součást optického luminiscenčního senzoru.

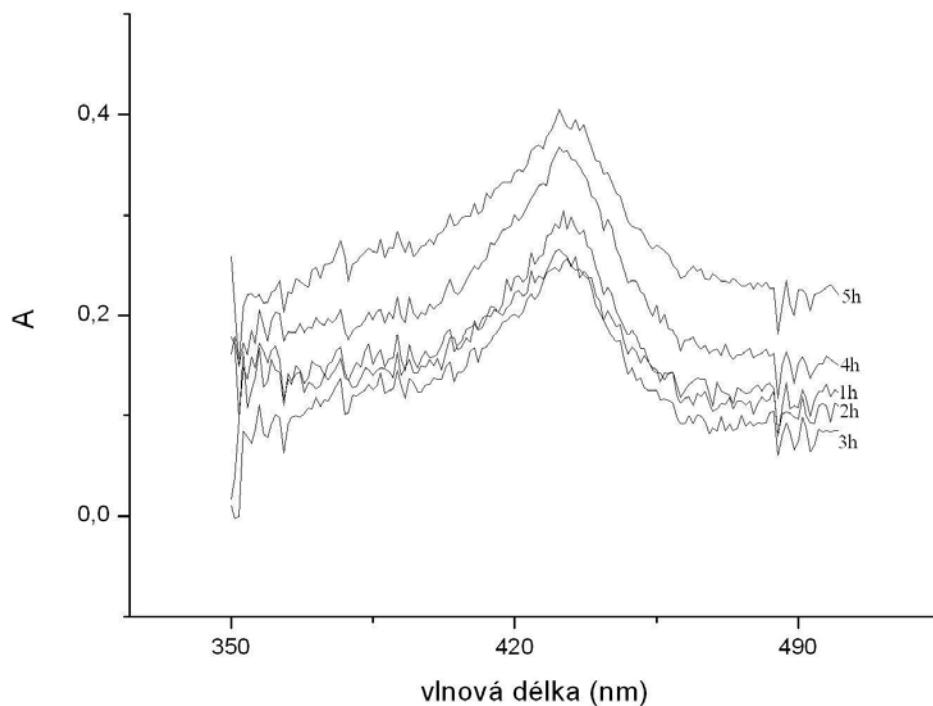
6.2. Chemická modifikace polykarbonátového povrchu LED

Byly systematicky prostudovány možnosti skeletální nespecifické oxidace polykarbonátu za vzniku volných karboxylových skupin a možnost navázání aminoskupin po nitraci aromatických jader v polymerním řetězci a následné redukci nitroskupin.

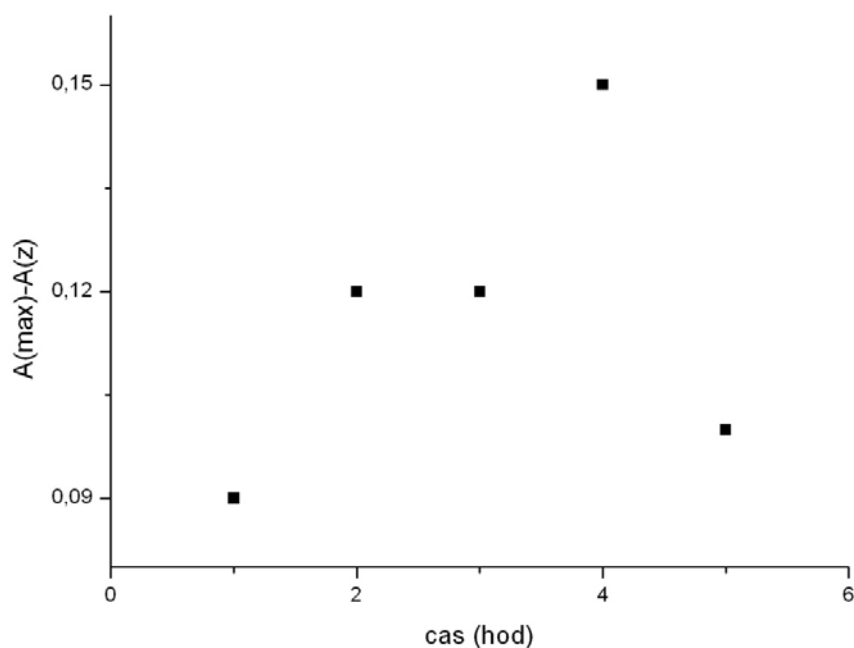
6.2.1. Oxidace

V rámci předběžných experimentů byla prostudována možnost oxidace polykarbonátu peroxodisíranem sodným v kyselém prostředí, manganistanem draselným v kyselém a alkalickém prostředí a peroxidem vodíku v kyselém prostředí. Pouze poslední uvedené činidlo prokázalo dostatečnou schopnost oxidace polykarbonátu. Jako optimální oxidační byla proto zvolena směs peroxidu vodíku (30%) a kyseliny sírové (96%) v objemovém poměru 1:1. Do této směsi ve zkumavce bylo ponořeno celé plastové pouzdro LED. Kovové přívody byly chráněny s pomocí teflonových hadiček předem naplněných teflonovým vakuovým tukem. Zkumavka s oxidační směsí byla ponořena v olejové lázni o teplotě 60°C. Po vyjmutí z oxidační směsi byla dioda opakovaně opláchnuta deionizovanou vodou. Přítomnost volných karboxylových skupin byla prokazována na základě jejího vybarvení barvivem TMPyP s absorpčním maximem 430 nm. Je známo, že toto kationogenní barvivo se sorbuje výhradně na povrchy s vázaným záporným nábojem, navázané množství je úměrné hustotě

povrchového záporného náboje, v našem případě počtu vzniklých karboxylových skupin. LED byla nejprve aktivována ponořením do 12% vodného roztoku amoniaku a po opláchnutí deionizovanou vodou byla ponořena na několik sekund do vodného roztoku barviva TMPyP o koncentraci mg/20ml. Poté byla vysušená LED umístěna do prostoru pro kyvetu absorpčního spektrofotometru tak, aby paprsek procházel kulovým vrchlíkem pouzdra a byla proměřeno absorpční spektrum v rozsahu 350 – 500 nm. Jako blank byla použita čistá nemodifikovaná LED. Průběh oxidace polykarbonátu byl výše uvedeným postupem sledován v časovém rozmezí 1 – 5 hodin. Závislost změn absorpčních spekter na době oxidace je uvedena na obr. 9. Na obrázku 10 je vynesena závislost rozdílu absorpčního maxima při 430 nm od základní linie v závislosti na době oxidace.



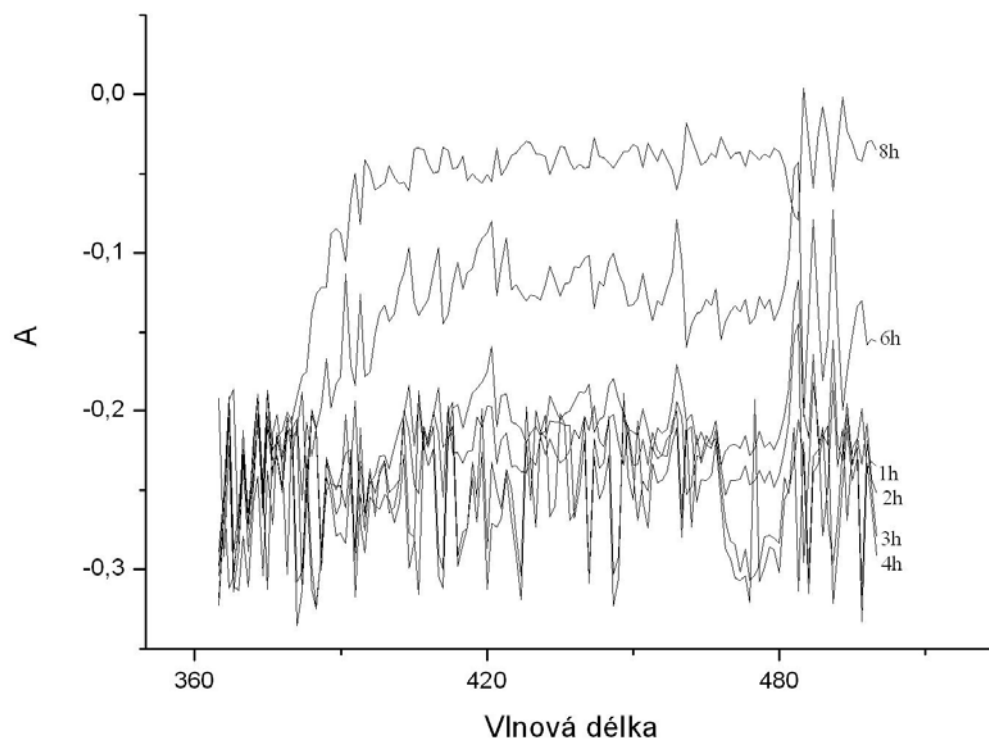
Obr. 9 Absorpční spektra LED po oxidaci a navázání barviva TMPyP



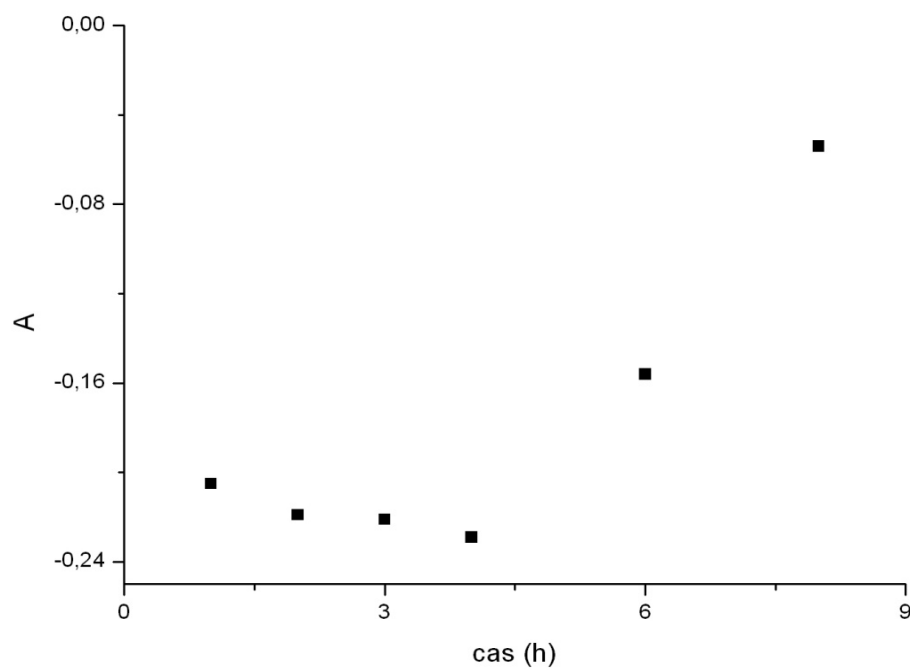
Obr. 10 závislost rozdílu absorbance v absorpčním maximu a absorbance základní linie barvených LED na čase

Následně byl sledován vliv oxidace na destrukci povrchu pouzdra LED. Již na základě předběžného vizuálního hodnocení bylo zřejmé, že delší doby oxidace vedou ke zmatnění jejího povrchu. Byl proveden experiment, kdy byly LED vystaveny působení oxidační směsi po dobu 1,2,3,4,6 a 8 hodin a následně, bez navázání barviva TMPyP, proměřena jejich absorpční spektra a odečteny hodnoty absorbance při 430 nm. Výsledky jsou uvedeny na obr. 11 a 12. Je zřejmé, že po 6 a 8 hodinách oxidace již dochází k výraznému narušení povrchu LED, což se objektivně projevuje zvýšením celé základní linie absorpčních spekter.

Na základě získaných výsledků byl odhadnut optimální čas oxidace za zvolených podmínek na 4 hodiny, kdy dochází díky přítomnosti vzniklých karboxylových skupin k maximální chemisorpci barviva TMPyP a zároveň nedochází k viditelnému narušení povrchu polykarbonátu. Veškeré LED s vázanými karboxylovými skupinami používané dále byly připraveny za těchto podmínek.



Obr. 11 Absorpční spektra nebarvených oxidovaných LED



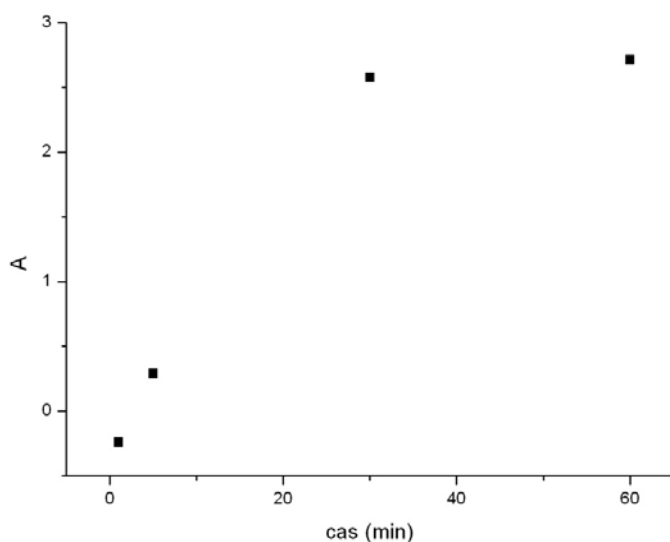
Obr. 12 Závislost absorbance nebarvených oxidovaných led na čase oxidace, hodnoty byly získány zprůměrováním hodnot absorbancí v několika bodech absorpčního spektra

6.2.2. Nitrace a redukce

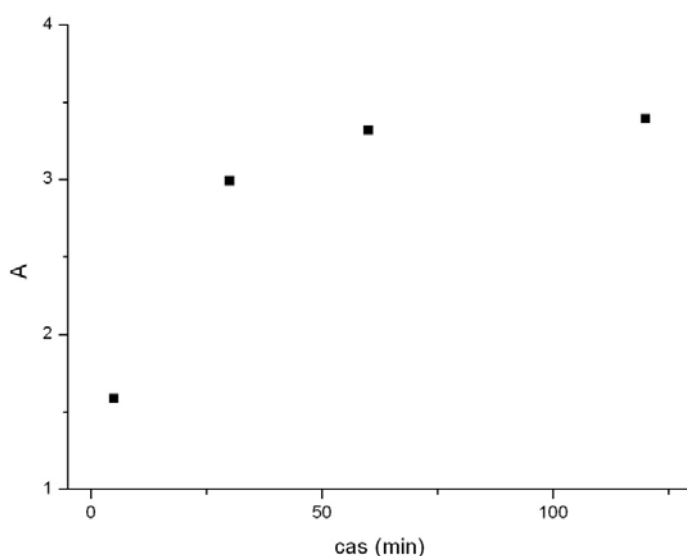
Účelem této modifikace bylo nejprve povrch LED nitrovat a poté redukovat za vzniku volných aminoskupin. Během nitrace dochází k obarvení polykarbonátu do žluta a v průběhu redukce opět k jeho odbarvení. Právě díky výrazné absorpci nitroskupiny při 380 nm a faktu, že aminoskupina ve viditelné oblasti neabsorbuje, je možno průběh nitrace a následné redukce monitorovat spektrofotometricky na základě změn absorbance při vlnové délce 430 nm.

V rámci provedených experimentů byla použita čistá 65% kyselina dusičná a nebo klasická nitrační směs 65% kyseliny dusičné a 96% kyseliny sírové v objemovém poměru 1:3, která byla dále ředěna deionizovanou vodou v objemovém poměru 1:1 a 3:1. Nitrace se prováděla v olejové lázni při teplotě 60°C, kovové přívody LED byly chráněny s pomocí teflonových hadiček předem naplněných teflonovým vakuovým tukem.. Průběh nitrace byl monitorován v časovém rozmezí do 120 minut. Výsledky monitorování průběhu nitrace 65% kyselinou dusičnou a směsí 65% kyseliny dusičné a nitrační směsí ředěné deionizovanou vodou v objemovém poměru 3:1 jsou uvedeny na obrázcích 13, 14.

Po nitraci směsí s kyselinou sírovou byl povrch LED po nitraci hladký, po nitraci pouze 65% kyselinou dusičnou byl povrch lehce matný. Nitrace neředěnou nitrační směsí vedla k velmi rychlému narušení povrchu polykarbonátu a je tedy prakticky nepoužitelná. Byla tedy zvolena směs kyseliny sírové a kyseliny dusičné v poměru 1:3 ředěná vodou v poměru 3:1. Optimální čas nitrace touto nitrační směsí je 30 minut.



Obr. 13 Závislost Absorbance maxima na čase pro LED nitrované směsí kyseliny sírové s kyselinou dusičné v poměru 1:3, ředěné vodou v poměru 3:1



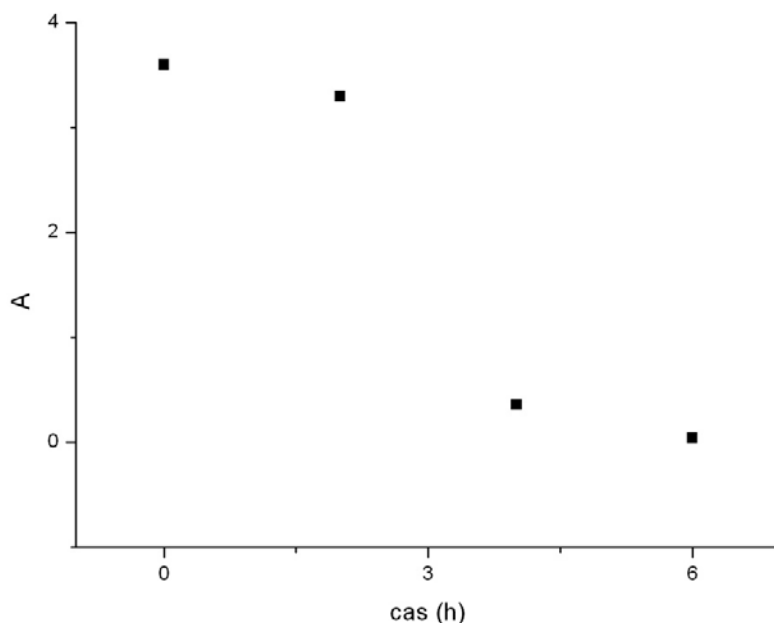
Obr. 14 Závislost absorbance v maximu na čase pro nitraci LED 65% kyselinou dusičnou

Jako redukční činidlo byl otestován vodný roztok chloridu cínatého připraveného reakcí vypočteného ekvivalentního množství čistého cínu s 35% kyselinou chlorovodíkovou, dále roztok sulfidu sodného v 96% ethanolu o koncentraci $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ a nasycený roztok sulfidu sodného v ethanolu. Za optimálních podmínek nitrované LED byly ponechány v redukčních činidlech po dobu 24 hodin při teplotě 60°C . Na základě vizuálního hodnocení stupně odbarvení bylo možno konstatovat, že pouze nasycený roztok sulfidu sodného v ethanolu umožňuje efektivně provést redukci nitroskupiny. V obou dalších případech byl stupeň odbarvení zanedbatelný, případně bylo viditelné oranžové zbarvení nitrosoderivátů jako redukčních meziproduktů.

Byla provedena redukce nasyceným roztokem sulfidu sodného v ethanolu na olejové lázni při teplotě 60°C , kovové přívody LED byly chráněny s pomocí teflonových hadiček předem naplněných teflonovým vakuovým tukem.. Kádinka s redukčním roztokem musela být v průběhu reakce přikrytá hodinovým sklíčkem, aby se ethanol neodpařil. Ve zvolených časových intervalech byla LED z roztoku vyjmuta, opláchnuta deionizovanou vodou a proměřeno absorpční spektrum v rozsahu vlnových délek 300 – 500 nm. Následně byla znovu ponořena do redukčního roztoku. Časová závislost změny absorbance při 380 nm je uvedena na obr. 15. Je zřejmé, že po šesti hodinách došlo k úplnému odbarvení, tento optimální čas byl použit při přípravě všech dále používaných LED s aminoskupinou.

Přítomnost volné aminoskupiny na povrchu polykarbonátu byla nezávisle potvrzena ninhydrinovou reakcí. Modifikovaná LED byla krátce ponořena do 5% ethanolického roztoku

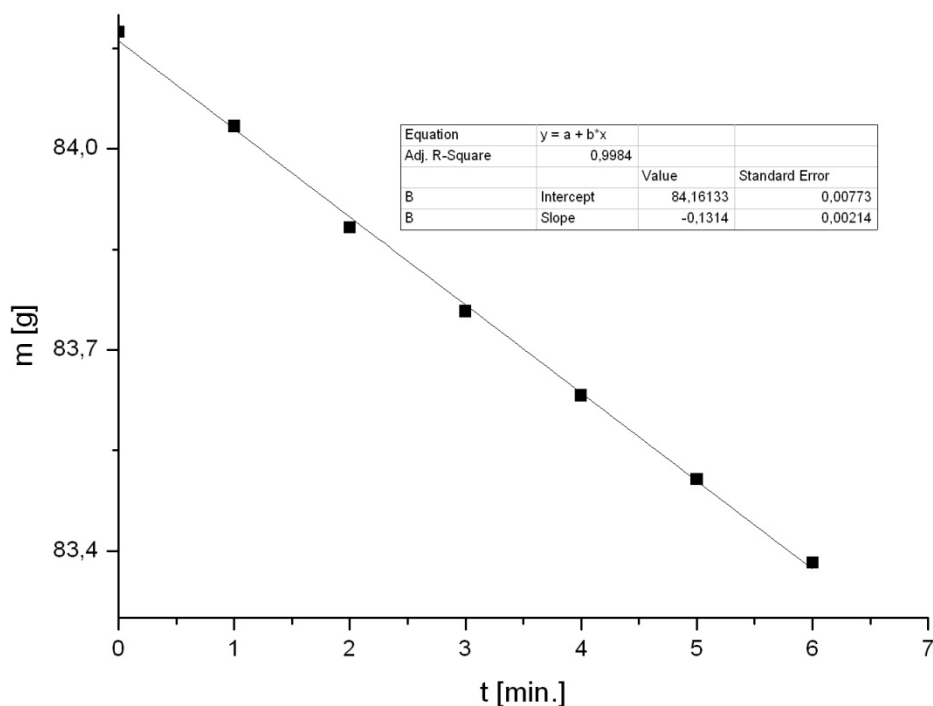
ninhydrinu a ponechána při 100°C po dobu 20 min. v laboratorní sušárně. Po jejím vyjmutí bylo možno pozorovat výrazné fialové zbarvení dokazující přítomnost aminoskupin na povrchu polykarbonátu.



Obr. 15 Závislost absorpance LED v maximu na čase redukce

6.3. Příprava vzorků toluenu pro testování odezvy navrženého fluorosenzoru

Pro práci s plynným vzorky o definovaném obsahu toluenu byla nejprve provedena kalibrace použitého zařízení pro přípravu plynných směsí. Do předem zvážené zásobní nádoby bylo odpipetováno 100 ml toluenu, po jejím uzavření byl nastaven průtok vzduchu jako nosného plynu na hodnotu 5 ml/min a systém termostatován na teplotu $20 \pm 0,1$ °C po dobu 20 minut. Poté byl v periodických intervalech po jedné minutě sledován úbytek hmotnosti toluenu v nádobce. Graf závislosti úbytku hmotnosti toluenu na čase je uveden na obr. 16. Z obrázku je zřejmé, že tato závislost je lineární a zdroj poskytuje stálou koncentraci toluenu 26,28 mg/ml. Další plynné vzorky pro sledování koncentrační odezvy detektoru byly připraveny následným ředěním této směsi proudem vzduchu o průtoku 5, 15, 25 a 45 ml/min. s výslednou koncentrací toluenu ve vzorku 13,14; 6,57; 4,38 a 2,63 mg/ml.



Obr. 16 Závislost změny hmotnosti toluenu v zásobní nádobce zdroje na čase.

Pro práci s kapalnými vzorky byl nejprve připraven zásobní nasycený roztok toluenu ve vodě. Bylo naváženo 100 mg toluenu do 100 ml odměrné nádoby. Po doplnění nádoby deionizovanou vodou byl roztok krátce sonifikován v ultrazvukové lázni a ponechán přes noc v termostatu při teplotě 20 °C. Z takto připraveného zásobního roztoku o koncentraci toluenu 0,47 mg/ml byly ředěním deionizovanou vodou připraveny další použité kalibrační roztoky.

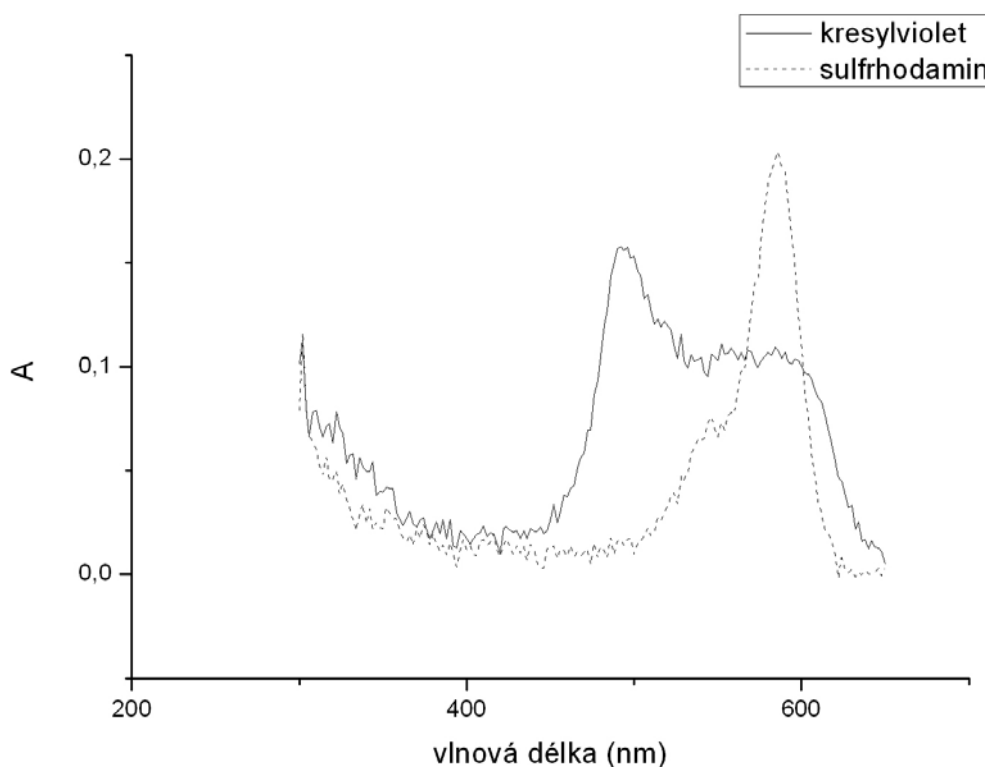
6.4. Příprava LED modifikovaných fluorescenčními barvivy

Pro modifikaci LED s volnými karboxylovými skupinami bylo použito kationogenní fluorescenční barvivo kresylviolet hydrochlorid. Byl připraven její roztok v 96% etanolu o koncentraci 0,005 mg/ml. LED byla krátce aktivována ponořením do 12% vodného roztoku amoniaku (zajištění plné disociace karboxylových skupin) a ihned na 10 minut ponořena do roztoku barviva. Po vyjmutí byla opláchnuta deionizovanou vodou pro odstranění

nenavázaných zbytků barviva, po dobu tří minut sonifikována v deionizované vodě a na konec opláchnuta 96% ethanolem. Takto připravené LED byly před dalším použitím uchovávány v laboratorním exikátoru.

Pro modifikaci LED s volnými aminoskupinami bylo použito anionogenní fluorescenční barvivo sulforhodamin 101. Byl připraven jeho roztok v 96% ethanolu o koncentraci 0,005 mg/ml. LED byla krátce aktivována ponořením do 12% vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové (zajištění úplné protonizace aminoskupin) a ihned na jednu minutu ponořena do roztoku barviva. Po vyjmutí byla opláchnuta deionizovanou vodou pro odstranění nenavázaných zbytků barviva, po dobu tří minut sonifikována v deionizované vodě a na konec opláchnuta 96% ethanolem. Takto připravené LED byly před dalším použitím uchovávány v laboratorním exikátoru.

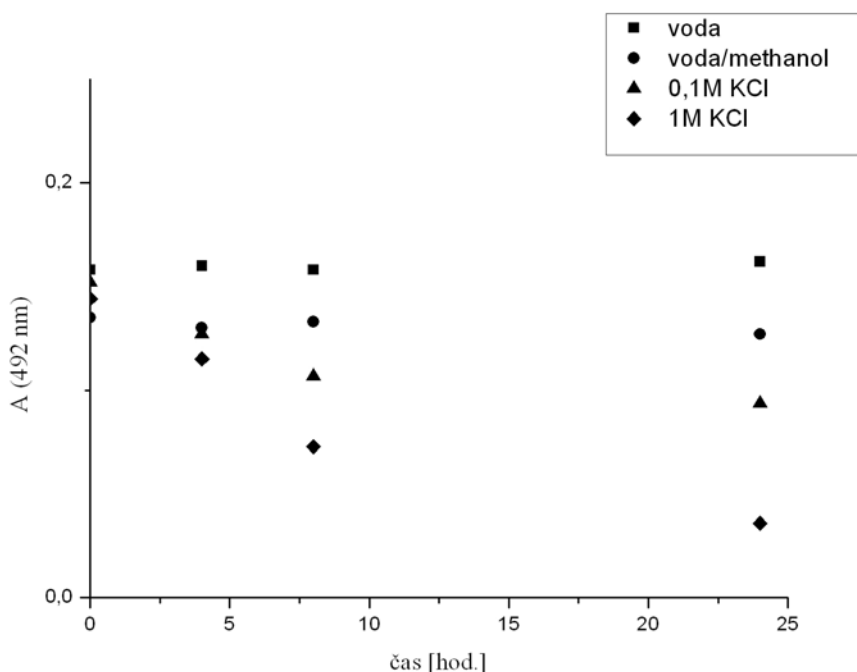
Na obr. 17 jsou vyobrazena absorpční spektra naměřená pro LED po expozici v roztocích barviv. Z obrázků je zřejmá úspěšná depozice použitých barviv na povrch polykarbonátu chemisorpcí.



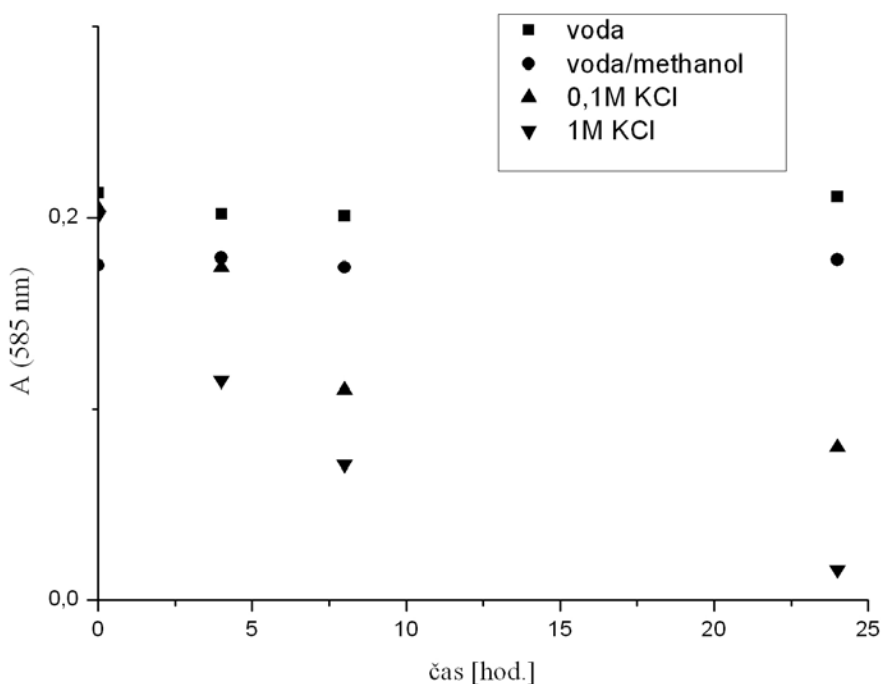
Obr. 17 absorpční spektra LED po expozici kresylvioleti a sulfrhodaminem

6.5. Stabilita LED s navázanými fluorescenčními barvivy

Zejména pro použití k analýze kapalných analytů je důležité prostudovat stabilitu vrstvy fluorescenčního barviva ve styku s kapalnou fází. Oba typy LED s navázaným kationogenním a anionogenním barvivem byly po dobu 24 hodin ponořeny do deionizované vody, 50% vodného roztoku methanolu, 0,1 M a 1M vodného roztoku KCl. Ve zvolených časových intervalech byly LED z roztoků vyjmuty, osušeny a byla proměřena příslušná absorpční spektra. Hodnoty absorbance při vlnových délkách absorpčních maxim barviv (585 nm pro sulforhodamin 101 a 495 nm pro kresylviolet hydrochlorid), v časových intervalech 0, 4, 8 a 24 hodin jsou uvedeny na Obr. 18, 19. Z obou obrázků je zřejmé, že voda ani vodně organická fáze nezpůsobuje měřitelné vymývání barviv z povrchu polykarbonátu. Ke zjevnému vymývání však dochází v roztocích KCl, efekt roste s jeho rostoucí koncentrací. Tento jev zjevně souvisí s charakterem elektrostatické vazby barviva na povrch polykarbonátu. Obdobně jako v případě iontoměničů roztoky s rostoucí iontovou silou narušují vazbu s navázanou látkou a způsobují její desorpci. Z praktického hlediska, předpokládajícího analýzu kapalných analytů s nízkou iontovou silou, však tento efekt nebude významný.



Obr. 18 Absorbance LED s navázanou kresylvioletí při vlnové délce 492 nm v pravidelných intervalech po ponoření do deionizované vody, 50% vodného roztoku methanolu, 0,1M KCl a 1M KCl

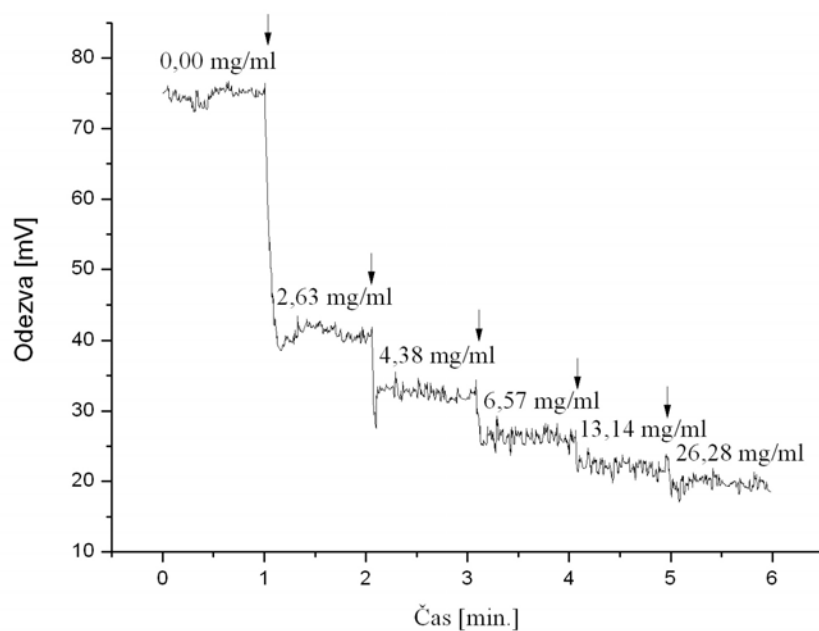


Obr. 19: Absorbance LED s navázaným sulfhodaminem při vlnové délce 585 nm v pravidelných intervalech po ponoření do deionizované vody, 50% vodného roztoku methanolu, 0,1M KCl a 1M KCl

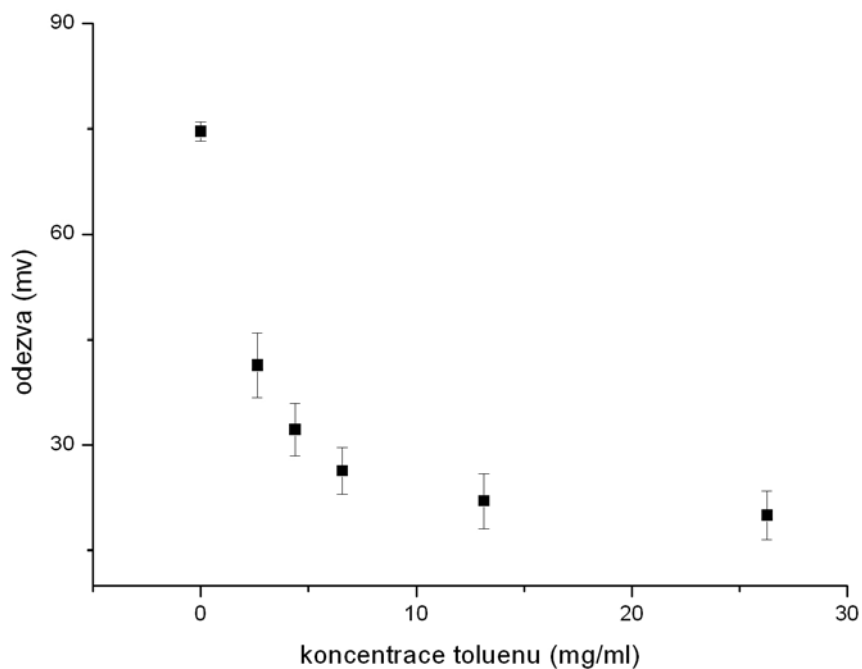
6.6. Měření senzorké odezvy pro analyt v plynné fázi

Pro přípravu plynných směsí par toluenu se vzduchem byla použita nakalibrovaná aparatura popsaná v experimentální části. Pro vlastní měření byly použity zelené LED (emisní maximum 530 nm) s navázanými fluorescenčními barvivy. Volba tohoto typu LED je dána kompromisem mezi dostatečnou excitací barviva a nutností odfiltrovat budící záření použitým hranovým filtrem před vlastní detekcí, znemožňující použít excitační vlnové délky vyšší než 550 nm. S pomocí vláknového spektrofotometru byla snímána luminiscence při vlnové délce 610 nm. Příslušné LED byly připojeny k přívodním kabelům zdroje konstantního proudu a umístěny do měřicí cely. Výsledky měření pro průtokové uspořádání se schodovitě rostoucí koncentrací toluenu jsou uvedeny na Obr. 20, 22. Na obrázku 21, 23 jsou znázorněny kalibrační závislosti pro obě měření. V případě obou barviv dochází k předpokládanému zhášení fluorescence, nelineárně závislému na koncentraci analytu. V obou případech dochází k rychlé saturaci vrstvy barviva analytem, doprovázené klesající citlivostí pro jeho vyšší koncentrace. Z obou obrázků je zřejmá velmi rychlá odezva detektoru na změnu koncentrace analytu. pozorovaná časová prodleva v řádu vteřin je dána spíše charakterem reálného

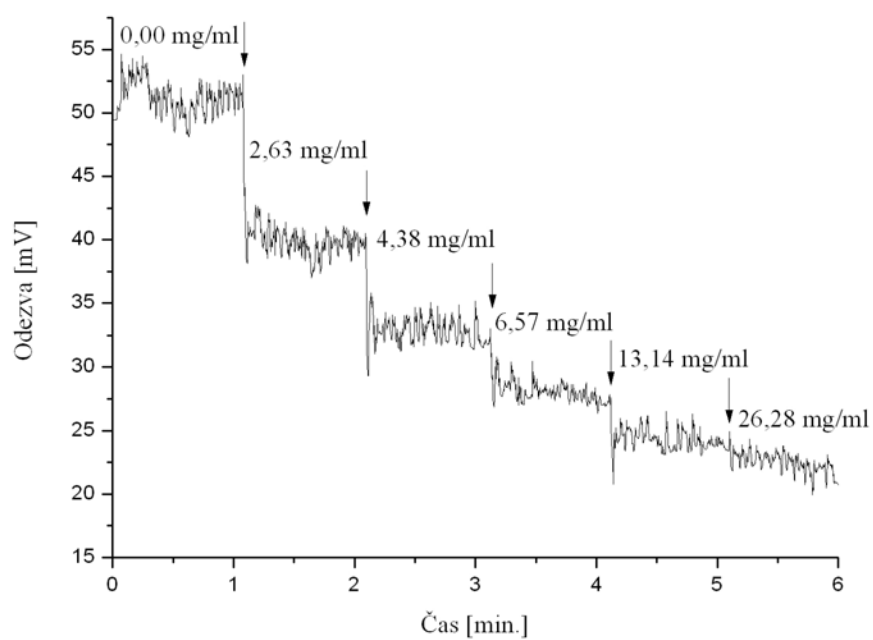
koncentračního profilu při změně koncentrace a nikoliv prodlevou vlastní odezvy fluoreskující vrstvy.



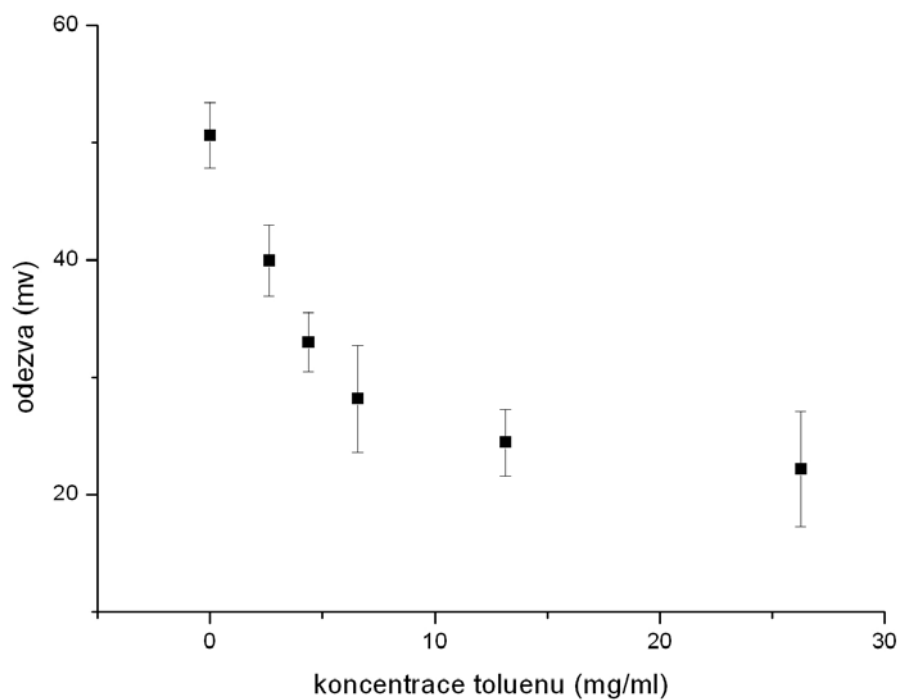
Obr. 20 Odezva detektoru v při schodovitě rostoucí koncentraci toluenu pro LED s navázanou kresylvioletí



Obr. 21 kalibrační závislost odezvy na koncentraci toluenu pro LED s navázanou kresylvioletí



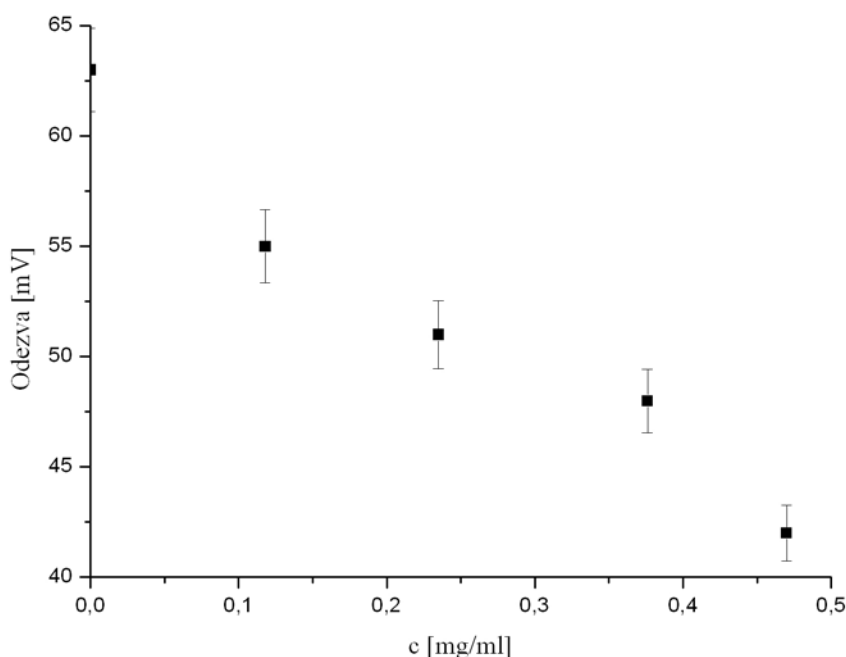
Obr. 22 Odezva detektoru při schodovitě rostoucí koncentraci toluenu pro LED s navázaným sulfrhodaminem



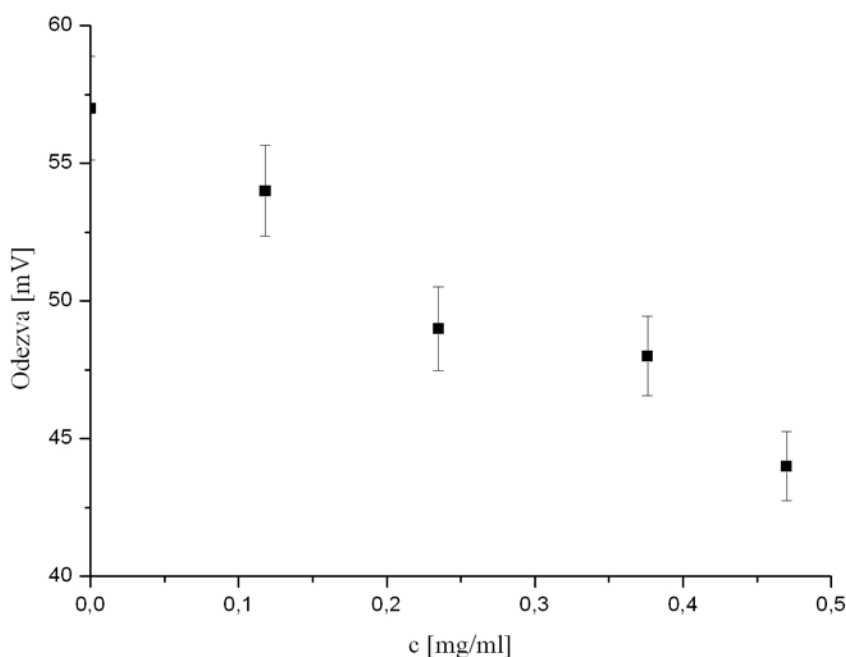
Obr. 23 kalibrační závislost odezvy na koncentraci toluenu pro LED s navázaným sulfrhodaminem

6.7. Měření senzorické odezvy pro analyt v kapalně fázi

Použitá aparatura neumožňovala analyzovat kapalně analyty průtokovým způsobem. Při měření vodných roztoků toluenu jsem postupovala následujícím způsobem: do předem vysušené měřicí cely s umístěnou LED byly odpipetovány 2 ml analyzovaného roztoku, cela uzavřena a v průběhu jedné minuty provedeno měření intenzity luminiscence. S pomocí vláknového spektrofotometru byla snímána luminiscence při vlnové délce 610 nm. Bylo průběžně odečteno 5 hodnot odezvy detektoru v mV, vypočten jejich aritmetický průměr, který byl vyneseny do sloupcového grafu. Měřený roztok byl odsát automatickou pipetou a měrná cela naplněna dalším analyzovaným roztokem. Kalibrační závislosti pro zelené LED modifikované oběma barvivy jsou uvedeny na Obr. 24, 25. Z obrázků je zřejmé, že i v kapalně fázi s rostoucí koncentrací analytu klesá intenzita luminiscence a obě kalibrační závislosti závislosti jsou nelineární. Ve srovnání s měřením v plynně fázi však i pro nejvyšší měřenou koncentraci nedochází k saturaci senzoru. Relativní směrodatná odchylka průměru naměřených odezev pro žádnou z měřených koncentrací nepřekročila 3%.



Obr. 24 Závislost odezvy detektoru na koncentraci vodného roztoku toluenu pro LED s navázanou kresylvioletí



Obr. 25 Závislost odezvy detektoru na koncentraci vodného roztoku toluenu pro LED s navázaným sulfrhodaminem.

7. Závěr

Je možno konstatovat, že cíle definované v zadání práce byly splněny.

Podařilo se navrhnout a optimalizovat chemické reakce umožňující modifikaci polymerního řetězce polykarbonátu záporně a kladně nabitými skupinami umožňujícími navázání ionogenních fluorescenčních barviv na povrch polymeru s pomocí elektrostatických interakcí. Bylo potvrzeno, že interakce mezi barvivem a modifikovaným polymerem je dostatečně stálá, s výjimkou roztoků s vysokou koncentrací solí nedochází k významnějšímu vymývání barviva z povrchu polymeru. Strukturně nespecifická interakce umožňuje vázat na povrch celou škálu různých látek ovlivňujících fyzikálně chemické vlastnosti povrchu. Přítomnost karboxylové skupiny a zejména aminoskupiny je zajímavá i z hlediska další možné modifikace kovalentně vázanými sloučeninami. Příkladem může být použitá ninhydrinová reakce pro důkaz přítomnosti volné aminoskupiny. Jistě bude možno navázat i komerčně dostupná derivatizační činidla, například dansylchlorid, nebo další cíleně připravené sloučeniny.

S využitím LED modifikovaných běžnými fluorescenčními barvivou byl sestaven jednoduchý prototyp fluorosenzoru s integrovanou budící a snímací částí. Byl úspěšně

otestován při měření koncentrace toluenu v plynné fázi a v roztoku. V případě plynného a kapalného vzorku a pro obě použita fluorescenční barviva byl pozorován jednoduchý mechanismus detekce na základě zhášení fotoluminiscence vrstvy barviva vázaného na povrchu polymeru. Mezi hlavní pozitiva navrženého detekčního uspořádání patří jednoduchost, kompaktnost a nízká cena použitého zařízení a rychlost odezvy na změnu koncentrace analytu. Ze změřených kalibračních závislostí vyplývají i některé nedostatky navrženého prototypu fluorosenzoru související s malou plochou aktivní plochy senzoru. Monomolekulární vrstva navázaného barviva poskytuje relativně nízkou intenzitu luminiscenčního záření a je rychle saturována již nízkými koncentracemi analytu. Tento problém by mohlo vyřešit použití chemických reakcí vhodným způsobem zvyšujícím povrch chemicky modifikovaného polykarbonátu. V této práci byly využity pouze chemické reakce zachovávající transparentní hladký povrch polykarbonátu. Jak v případě oxidace a především nitrace byl pro delší časy reakce a vyšší koncentrace použitých činidel pozorován vznik matných povrchů s větší aktivní plochou. Je možné, že z hlediska dynamického rozsahu odezvy by bylo jejich použití výhodnější. Dalším problémem ovlivňujícím citlivost detekce je nemožnost optimálního buzení luminiscence použitých barviv s pomocí vlnových délek vyšších než 550 nm. Při pokusu o použití oranžových luminiscenčních diod došlo k zahlcení detektoru budícím zářením. Uvedený problém by bylo možné řešit cíleným výběrem fluorescenčních barviv s absorpčními pásy blízkými emisním čárám použitých budících LED a luminiscenčními emisními čarami dostatečně odlišnými od energií budícího záření. Z předložených experimentálních výsledků přímo nevyplývá předpokládaná nízká selektivita navrženého prototypu fluorosenzoru. Je možno předpokládat, že mechanismus detekce na základě zhášení fotoluminiscence se bude uplatňovat pro širokou škálu analytů. Možným řešením tohoto problému je vytvoření komplexních vrstev na povrchu polymeru, obsahujících například nejen fluorofory, ale i sloučeniny se strukturně rozpoznávacími schopnostmi.

8. Poděkování

Tato diplomová práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru MSM 0021620857.

9. Seznam použité literatury

- [1] Janata, J.; Bezech, A.: Chemical sensors. *Anaitial Chemistry*. **60**, 62R-74R (1988).
- [2] Eggins, B. R.: *Chemical sensors and biosensors*. John Wiley & Sons (2003)
- [3] Šťastný, M.; Krondák, M.; Volf, R.; Král, V.: Chemické senzory I základní pojmy. *Automatizace* **46**:6, 405-407 (2003)
- [4] Huet, A. C.; Fodey, T.; Haughey, S. A.; Weigel, S.; Elliott, C.; Delahaut, P.; : Advances in biosensor-based analysis for antimicrobial residues in foods. *Trends in analytical chemistry* **29**:11, 1281 – 1294 (2010)
- [5] Mikkelsen, S. R.; Cortón, R.: *Bioanalytical chemistry*. John Wiley & Sons 2004
- [6] Štulík K.; Pacáková V., *Elektroanalytická měření v proudících kapalinách*, SNTL Praha 1989
- [7] Eckschlager K.; Horsák, I.; Kodejš Z., *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*, SNTL Praha 1980
- [8] Czabban, J. D.: Electrochemical sensors in clinical chemistry: yesterday, today, tommorow. *Analytical chemistry* **57**:2, 345A – 356A (1985)
- [9] Belyustin, A. B.: The centenary of glass electrode: From Max Cremer to F. G. K. Baucke. *J Solid State Electrochem* **15**, 47-65 (2011)
- [10] Bard, A. J.; Faulkner, L. R.: *Electrochemical methods fundamentals and applications*. 2nd ed. John Wiley & Sons 2001
- [11] Wang, J.: *Analytical electrochemistry*. 2nd ed. John Wiley & Sons 2000
- [12] Brett, CH. M. A.; Brett. A. M. O: *Electrochemistry principles, methods and applications*. Oxford university press 1993
- [13]Chen, X.; Zhu, J.; Xi, Q.; Yang, W.: A high performance electrochemical sensor for acetaminophen based on single-walled carbon nanotube–graphene nanosheet hybrid films. *Sensors and actuators B* **161**, 648-654 (2012)
- [14]Jerónimo, P. C. A.; Araújo, A. N.; Conceicao, M.: Optical sensors and biosensors based on sol–gel films. *Talanta* **72**:1, 13-27 (2007)
- [15]Wolfbeys, O.S.: Analytical chemistry with optical sensors. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **325**, 387-392 (1986)
- [16] Šťastný, M.; Krondák, M.; Volf, R.; Král, V.: Chemické senzory V. *Automatizace* **46**:10, 690-693 2003
- [17]Němcová, I.; Čermáková, L.; Rychlovský, P.: *Spektrometrické analytické metody I*. Univerzita Karlova, vydavatelství Karolinum (1997)

- [18] Papkovsky, D.B. ; Ovchinnikov, A. N.; Ogurtsov, V. I.; Ponomarev, G. V.; Korpela, T.: Biosensors on the basis of luminescent oxygen sensor: the use of microporous light-scattering support materials. *Sensors and Actuators B* **51**, 137-145 (1998)
- [19] Dong, S.; Luo, M.; Peng, G.; Cheng, W.: Broad range pH sensor based on sol-gel entrapped indicators on fibre optic. *Sensors and Actuators B* **129**, 94–98 (2008)
- [20] Choi, M. M. F.; Tse, O. L.: Humidity-sensitive optode membrane based on a uorescent dye immobilized in gelatin film. *Analytica Chimica Acta* **378**, 127-134 (1999)
- [21] Dickens, J. E.; Vaughna, M. S. ; Taylora, M. ; Ponsting M: An LED array-based light induced fluorescence sensor for real-time process and field monitoring. *Sensors and Actuators B* **158**, 35– 42 (2011)
- [22] Draxler, S.; Lippitsch, M. E.: pH sensors using fluorescence decay time. *Sensors and Actuators B* **29**, 199-203 (1995)
- [23] Wencel, D.; MacCraith, B. D.; McDonagh C.: High performance optical ratiometric sol-gel-based pH sensor. *Sensors and Actuators B* **139**, 208–213 (2009)
- [24] Ertekin, K.; Karapire, C.; Alp, S.; Yenigül, B.; Icli, S: Photophysical and photochemical characteristics of an azlactone dye in sol-gel matrix; a new fluorescent pH indicator. *Dyes and Pigments* **56**, 125–133 (2003)
- [25] [ZhuJun](#), Z.; [Seitz](#), W. R.: A carbon dioxide sensor based on fluorescence. *Analytica Chimica Acta* **160**, 305–309 (1984)
- [26] Fujiwara, Y.; Okura. I.; Miyashita, T.; Amao, Y.: Optical oxygen sensor based on fluorescence change of pyrene-1-butyric acid chemisorption film on an anodic oxidation aluminium plate. *Analytica Chimica Acta* **471**, 25–32 (2002)
- [27] Fujiwara, Y.; Amao, Y.: An oxygen sensor based on the fluorescence quenching of pyrene chemisorbed layer onto alumina plates. *Sensors and Actuators B* **89**, 187–191 (2003)
- [28] Pickup, J. C.; Hussain, F.; Evans, N. D.; Rolinski, O. J.; Birch, D. J. S.: Fluorescence-based glucose sensors. *Biosensors and Bioelectronics* **20**, 2555–2565 (2005)
- [29] Zhang, J. F.; Lim, Ch. S.; Cho, B.R.; Kim, J. S.: A two-photon excited luminescence of water-soluble rhodamine–platinum(II) complex: Fluorescent probe specific for Hg²⁺ detection in live cell. *Talanta* **83**, 658–662 (2010)
- [30] Zhou, Y; Xiao, Y.; Qian, X.: A highly selective Cd²⁺ sensor of naphthyridine: fluorescent enhancement and red-shift by the synergistic action of forming binuclear complex. *Tetrahedron Letters* **49**, 3380–3384 (2008)
- [31] Bozkurt, S. S.; Ayata, S.; Kaynak, I.: Fluorescence-based sensor for Pb(II) using tetra-(3-bromo-4-hydroxyphenyl)porphyrin in liquid and immobilized medium. *Spectrochimica Acta Part A* **72**, 880–883 (2009)

- [32] Lindon, J. C.; Tranter, G. E.; Holmes, J. L.; *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry*. Elsevier 2000
- [33] Fen, Y. W.; W. Yunus, W. M. M.; Yusof, N. A.: Surface plasmon resonance optical sensor for detection of Pb²⁺ based on immobilized p-tert-butylcalix[4]arene-tetrakis in chitosan thin film as an active layer. *Sensors and Actuators B* **171–172**, 287–293 (2012)
- [34] D. Harvey, *Modern analytical chemistry*. McGraw Hill 2000
- [35] Hales, B.; Burgess, L.; Emerson, S.: An absorbance-based fiber-optic sensor for CO₂ measurement in porewaters of sea floor sediments. *Marine Chemistry* **59** 51-62 (1997)
- [36] Šťastný, M.; Krondák, M.; Volf, R.; Král, V.: Chemické senzory IV. *Automatizace* **46:9**, 624-626 (2003)
- [37] Hubert, T.; Boon-Brett, Black, G.; Banach, U.: Hydrogen sensors – A review. *Sensors and Actuators B* **157**, 329–352 (2011)
- [38] Zipser, L.; Wächter, F.: Acoustic sensor for ternary gas analysis. *Sensors and Actuators B* **26–27**, 195-198 (1995)
- [39] Ripka, P.; Ďaďo, S.; Kreidl, M.; Novák, J.: *Senzory a převodníky*. Česká technika – nakladatelství ČVUT 2005
- [40] Doleček, J.: *Moderní učebnice elektroniky 3.díl Optoelektronika, optoelektronické prvky a optická vlákna*. BEN 2005
- [41] Lau, K. T.; Baldwin, S.; Shepherd, R. L.; Dietz, P. H.; William. S. Yezunis, W. S.; Diamond, D.: Novel fused-LEDs devices as optical sensors for colorimetric analysis. *Talanta* **63**, 167–173 (2004)
- [42] Massie, C.; Stewart, G.; McGregor, G.; Gilchrist, J. R.: Design of a portable optical sensor for methane gas detection. *Sensors and Actuators B* **113**, 830–836 (2006)
- [43] Taha M.A. Razek, T. M. A.; Miller, M. J.; Hassan, S. S. M.; Arnold, M. A: Optical sensor for sulfur dioxide based on fluorescence Quenching. *Talanta* **50**, 491–498 (1999)
- [44] UL IDES dostupné z URL: <<http://www.ides.com>> [cit. 13.8.2012]
- [45] J.M. Pérez, J.L. Vilas a, J.M. Lazaa, S. Arnáizb, F. Mijangosa, E. Bilbaoc, M. Rodríguez, L.M. Leóna: Effect of reprocessing and accelerated ageing on thermal and mechanical polycarbonate properties. *Journal of Materials Processing Technology* **210**, 727–733 (2010)
- [46] Dauginet, L.; Duwez, A. S.; Legras, R.; Demoustier-Champagne, S.: Surface Modification of Polycarbonate and Poly(ethylene terephthalate) Films and Membranes by Polyelectrolyte Deposition. *Langmuir* **17**, 3952-3957 (2001)

- [47] Subedi, D. P.; Zajickova, L.; Bursikova, V; Janca, Jan: Surface modification of polycarbonate (bisphenol A) by low pressure rf plasma. *Himalayan journal of sciences* **1**, 115-118 (2003)
- [48] Gomathi, N.; Eswaraiah, C.; Neogi, S.: Surface modification of polycarbonate by radio-frequency plasma and optimization of the process variables with response surface methodology. *Journal of Applied Polymer Science*. **114**:3, 1557-1566 (2009)
- [49] Mark R. Adams, M. R; Garton, A: Surface modification of bisphenoi Apolycarbonate by far-UV radiation. Part I: In vacuum. *Polymer Degradation and Stability* **41**, 265-273 (1993)
- [50] Bhurke, Alekh S.; Askeland, Per A.; Drzal, Lawrence T.: Surface modification of polycarbonate by ultraviolet radiation and ozone. *Journal of Adhesion*. **83**:1, 43-66, (2007)
- [51] Dehaye, F.; Balanzat, E; Ferain, E.; Legras, R: Chemical modifications induced in bisphenol A polycarbonate by swift heavy ions. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **209**, 103–112 (2003)
- [52] Bañuls, M-J.; García-Piñón, F.; Puchades, R; Maquieira, A.: Chemical Derivatization of Compact Disc Polycarbonate Surfaces for SNPs Detection. *Bioconjugate Chem*. **19**, 665–672 (2008)